SUR
L'ASCITE CANCÉREUSE

Valeur séméiologique de certaines cellules contenues dans le liquide ascitique du cancer péritonéal.
Expérience négative d'incubation cancéreuse

PAR

M. C. REGAUD,

Préparateur adjoint au Laboratoire d'anatomie générale
de la Faculté de médecine de Lyon.

Communication faite au Congrès français de médecine,
Lyon, 1894.

LYON
ASSOCIATION TYPOGRAPHIQUE
Rue de la Barre, 12. — F. PLAN, directeur.

1895

Hommage de l'auteur
C. Regaud

SUR L'ASCITE CANCÉREUSE

Valeur séméiologique de certaines cellules contenues dans le liquide ascitique du cancer péritonéal. Expérience d'incubation cancéreuse négative au point de vue parasitaire.

PAR

M. C. REGAUD.

Nous avons eu l'occasion d'observer, pendant notre semestre d'internat dans le service de M. le Dr Humbert Mollière, trois cas de cancer du péritoine. Ces trois observations, que nous ne pouvons rapporter ici en détail, sont pour ainsi dire calquées les unes sur les autres. Il s'agit de cette forme bien connue de cancer péritonéal que l'on a comparée à la tuberculose aiguë miliaire et que par analogie on peut appeler *carcinose miliaire aiguë.*

Cliniquement, ces cas sont ainsi caractérisés : début insidieux chez une femme âgée (66, 69 ans) par des douleurs abdominales et de la constipation ; amaigrissement et cachexie extrêmement rapides, ascite constante parfois très abondante ; mort après trois mois de maladie.

Les lésions constatées à l'*autopsie* sont typiques : le tablier épiploïque est replié en un bourrelet adhérent au côlon transverse ; tous les viscères abdominaux sont englobés dans une masse néoplasique comparable à de la toile d'araignée froissée. La surface du péritoine est couverte de granulations cancéreuses parfois miliaires, d'autres fois lenticulaires et déprimées à leur centre. Ordinairement on ne trouve pas de foyers éloignés de généralisation.

Si l'on cherche le *point de départ du cancer*, on est ordinairement fort embarrassé, car au milieu de l'englobement général des organes, il n'est guère possible de savoir celui qui a été malade le premier. Dans nos trois cas, les ovaires, tout en n'étant pas augmentés de volume, étaient infiltrés par le néoplasme. Dans ces trois cas, il s'agissait de *carcinome alvéolaire.*

Nous avouons qu'il ne nous est pas possible, même après examen histologique, de dire si nous avons eu affaire à des carcinomes ovariques généralisés au péritoine, ou bien à des carcinomes primitifs du péritoine : question secondaire du reste, car nous avons en vue l'étude histologique de l'ascite qui accompagne ces cancers.

Nos observations histologiques sur le liquide ascitique se rapportent au dernier de nos trois cas : cancer alvéolaire du péritoine à forme miliaire, à marche aiguë, d'origine peut-être ovarique. Ces observations, en ce qui concerne la partie histologique, ont été confirmées par l'examen du liquide ascitique provenant d'un quatrième cas analogue, non suivi d'autopsie, mais dont le diagnostic clinique n'est pas douteux, et que nous devons à l'obligeance de M. le Dr Leclerc, médecin des hôpitaux.

I. — *Histologie de l'ascite cancéreuse.*

Le liquide ascitique est de couleur citrine, louche. A la fin de la vie il était rosé, légèrement hématique. Sa densité est en moyenne de 1016. Abandonné dans une cantine après la ponction, il devient le siège d'un coagulum fibrineux.

Il importe de faire l'examen de pareils liquides le plus tôt possible après la ponction, pour voir les éléments anatomiques isolés et éviter les groupements tout artificiels de cellules dus à la fibrine.

Nous avons pratiqué les examens histologiques dans les conditions suivantes : à l'état vivant, à la platine chauffante réglée automatiquement à 38° au moyen d'un régulateur d'Arsonval — après fixation et coloration simultanées au picro-carmin osmiqué — en mélangeant le liquide vivant avec une solution aqueuse faible de bleu de méthylène sous le microscope pour voir les éléments mourir et se colorer ; — enfin, en faisant agir un grand nombre de réactifs sur le liquide vivant sous le microscope (ac. osmique, ac. acétique, iode, etc.).

Le liquide de l'ascite cancéreuse contient les éléments anatomiques suivants :

A) *Globules rouges*, intacts pour la plupart, parfois crénelés, même dans le liquide vivant.

B) *Leucocytes*, relativement peu nombreux, doués de mouvements amiboïdes parfaitement nets, observables encore après 24 heures de platine chauffante, quand on aère la préparation.

C) *Très grosses cellules* ayant souvent 20 à 30 fois le diamètre

d'un globule rouge, irrégulièrement globuleuses, munies d'un ou plus souvent de plusieurs noyaux périphériques ovalaires à deux ou plusieurs nucléoles. Ces cellules contiennent une ou même deux ou trois boules d'une substance claire, parfaitement transparente, ne prenant aucun réactif colorant, d'apparence séreuse. Très souvent la boule claire est centrale, le protoplasma forme un mince anneau tout autour d'elle, le noyau fait saillie à la surface et la coupe optique ressemble exactement à une bague munie d'un chaton.

A côté de ces énormes cellules, relativement peu abondantes, on en trouve une très grande quantité d'autres plus petites, dont le ou les noyaux et le protoplasma ont les mêmes apparences et les mêmes réactions, mais qui ne possèdent pas de vacuoles.

Entre cette dernière forme et la grosse cellule vacuolaire, on trouve tous les intermédiaires.

Ces deux types de cellules, qu'elles soient vacuolaires ou non, contiennent pour la plupart un plus ou moins grand nombre de granulations sphériques, légèrement ambrées, de volume inégal; non colorables par le bleu de méthylène, le carmin, l'éosine, teintes en bistre clair par l'acide osmique; ne se modifiant pas sous l'influence de l'acide acétique, ne brunissant pas par l'iode; nous les rapportons à une variété de granulations graisseuses.

Depuis très longtemps les grosses cellules vacuolaires dont nous venons de parler ont été observées. Virchow (*Pathologie cellulaire*, trad. Picard, 1861, p. 335) leur a donné le nom pittoresque de *physalides* ou *cellules physaliphores*. Après lui, un grand nombre d'auteurs les ont retrouvées dans le liquide ascitique du cancer péritonéal et dans d'autres sérosités normales ou pathologiques.

Ranvier (Acad. sciences, 14 avril 1890) les décrit dans la sérosité péritonéale normale de certains animaux et notamment du chat.

C'est dire que nous n'avons pas la prétention de les avoir découvertes, ni celle d'en faire un élément spécifique de l'ascite cancéreuse.

Voici cependant quelques résultats nouveaux qui découlent de nos observations :

1° Il existe dans le liquide de l'ascite cancéreuse étudiée par nous deux ordres d'éléments cellulaires nucléés :

D'une part, des globules blancs de la lymphe et du sang, des leucocytes avec leurs diverses variétés ;

D'autre part, des cellules épithélioïdes, les unes physalipho-

res, les autres sans boules claires; ces deux types, entre lesquels on trouve des intermédiaires nombreux, ne sont que deux états différents d'un seul et même élément: *la cellule endothéliale du péritoine, infectée et cancéreuse.*

Ces deux ordres d'éléments sont tout à fait différents. Outre les différences morphologiques, on peut et on doit tenir compte de ce fait que nous avons observé, à savoir que les cellules à caractères épithélioïdes, physaliphores ou non, se rencontrent à la surface de la séreuse malade et à la surface des fausses membranes fibrineuses dans lesquelles elles se creusent des logettes.

Il est vrai que sur les coupes de pièces fixées et durcies, les alvéoles cancéreux de l'épiploon, par exemple, renferment des cellules qui ne ressemblent pas à celles qui flottent dans le liquide observé vivant. Les différences portant surtout sur le protoplasma et ses vacuoles délicates, il se pourrait qu'on dût les attribuer à la fixation, à la coagulation par les réactifs; et en effet, le mélange du liquide ascitique avec un fixateur, même très rapide, altère notablement la forme des éléments examinés au préalable vivants.

Les granulations miliaires cancéreuses se développant exactement à la surface de la séreuse, et, comme on l'a observé depuis longtemps, principalement dans les parties déclives, il est raisonnable d'attribuer leur formation à la greffe d'éléments cancéreux flottant dans le liquide ascitique. Nous attribuons volontiers ce rôle aux cellules épithélioïdes parfois physaliphores étudiées plus haut.

M. le professeur Renaut, qui a contrôlé nos recherches, partage notre opinion au sujet de la nature cancéreuse des cellules épithélioïdes de l'ascite cancéreuse.

2° Aidé de notre collègue le Dr Lacroix, nous avons pu *examiner au microscope, au moyen d'une platine chauffante* réglée, les éléments de l'un de nos cas d'ascite cancéreuse.

Les cellules physaliphores, que nous avons particulièrement observées, conservent pendant très longtemps leur vitalité, qui se traduit par des mouvements de déplacement par rapport aux autres éléments de la préparation, des changements de forme pseudopodiques et des variations dans le volume et la disposition des globes clairs intra-cellulaires. Au bout de 48 heures, il suffit de donner de l'air à la préparation en enlevant partiellement le lut de paraffine qui borde la lamelle couvre-objet, pour voir les cellules physaliphores, comme les leucocytes, reprendre leurs mouvements (1).

(1) Il n'y a rien de surprenant à voir des cellules, que nous considérons comme des cellules de l'endothélium péritonéal cancéreux, être

Nous avons vu une de ces cellules physaliphores se diviser en deux éléments distincts ayant chacun une boule claire.

Il résulte de ces constatations que ces cellules, considérées jusqu'à présent comme des éléments dégénérés, sont au contraire douées d'une grande activité.

D'ailleurs, le terme de dégénérescence colloïde, qui sert souvent à désigner cet état vacuolé, est tout à fait inexact, la substance claire qui remplit les vacuoles n'ayant pas les réactions histo-chimiques de la matière colloïde vraie.

3° Doit-on attacher une *valeur clinique* à la constatation des cellules que nous venons d'étudier ?

Comme nous l'avons vu, la présence de cellules épithélioïdes, même physaliphores, est assez fréquente dans les épanchements normaux ou pathologiques des séreuses.

Néanmoins, nous pensons, avec les auteurs qui ont signalé les cellules physaliphores dans l'ascite cancéreuse, que la présence d'une quantité abondante de cellules épithélioïdes, physaliphores ou non, dans un épanchement, est une excellente indication de la nature cancéreuse de l'épanchement.

Le schéma histologique de l'ascite symptomatique du cancer péritonéal (et peut-être aussi de la pleurésie cancéreuse) serait donc le suivant :

Globules rouges, nombre normal ou augmenté;

Globules blancs, nombre normal ou augmenté;

Cellules endothélioïdes, éventuellement physaliphores, isolées ou réunies en agrégats, de nombre très augmenté par rapport aux autres épanchements.

Nous renvoyons au mémoire de MM. Devic et Chatin (*Prov. méd.*, 1894) : « De la forme pleurale du cancer de l'estomac, valeur clinique de l'examen microscopique des épanchements ». — Nous pensons, contrairement aux auteurs de ce mémoire, que le groupement des cellules cancéreuses est dû à des coagulations fibrineuses, et que ce n'est pas un caractère primordial.

A l'appui de ces conclusions intéressant la clinique, nous avons depuis un an examiné un grand nombre d'épanchements pleuraux et péritonéaux de causes variées. Jamais nous n'avons rencontré de cellules physaliphores typiques; une seule fois

douées de mouvements amiboïdes. On sait en effet, depuis les travaux de Metchnikoff et de ses élèves, que les cellules endothéliales des vaisseaux sont douées de mouvements propres; Werigo « Les globules blancs comme protecteurs du sang » (*Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1892, p. 478) a démontré que les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins sont capables d'englober les grains inertes et les microbes par leur activité amiboïde.

nous vîmes, dans la première ponction d'un épanchement pleural non cancéreux et non tuberculeux (vérifié à l'autopsie) deux ou trois cellules présentant de petites vacuoles, et qui ne furent pas retrouvées à une deuxième ponction.

Le meilleur procédé pour bien observer les éléments anatomiques d'une sérosité venant d'être recueillie, consiste à additionner le liquide d'une petite quantité d'une solution aqueuse faible de bleu de méthylène ou de vert de méthyle faiblement osmiquée. Les parties constituantes de ces éléments anatomiques se colorent avec élection de nuances allant du bleu au violet pur quand il s'agit de bleu de méthylène.

II. — *Recherches parasitologiques.*

Ainsi en possession d'un liquide contenant des éléments cancéreux, pensons-nous, et provenant d'un *cancer extrêmement infectieux,* nous avons cherché à constater la présence des *figures parasitaires* que l'on a décrites dans les coupes de cancers.

Dans le liquide frais, examiné vivant ou traité par les réactifs usuels, nous n'avons rien vu qui ait les apparences d'un parasite, mais seulement des éléments anatomiques plus ou moins modifiés. D'ailleurs, on sait combien il est difficile de se prononcer par l'examen microscopique seul sur la signification de certaines figures intra ou extra-cellulaires.

La culture en milieux variés et l'inoculation dans le péritoine du cobaye ne nous ont donné, comme on pouvait le prévoir, aucun résultat.

D'autre part, si le cancer est parasitaire, le parasite se trouve vraisemblablement à l'intérieur ou au voisinage des cellules cancéreuses; notre liquide ascitique doit en contenir.

Nous avons eu recours à la méthode suivante, véritable *méthode d'auto-culture* (1) : par le moyen d'une ponction abdominale rigoureusement aseptique, condition facile à réaliser, on recueille dans des tubes à essai stérilisés du liquide cancéreux. Ces tubes, soigneusement fermés, sont abandonnés dans différentes conditions de température pendant un certain temps. Nous pensions qu'il se produirait, au bout d'un temps variable,

(1) La méthode d'incubation cancéreuse a déjà été employée par Wickham, dans ses travaux sur la maladie de Paget du mamelon (1890), et avant lui par Shattuck et Ballance (*Histologie du cancer et des tissus normaux après une incubation stérile,* London path. Society, 15 mai 1888).

des modifications de la structure cellulaire capables de mettre en évidence le parasite supposé, ou bien encore que ce parasite, invisible par nos moyens imparfaits d'investigation optique, subirait par le fait de l'incubation des modifications vitales susceptibles de l'amener à une phase nouvelle et facilement observable de son développement.

Voici quels ont été les résultats de cette incubation cancéreuse à l'abri des germes :

Dix mois après le début de l'expérience, les tubes à culture n'ont pas subi de modifications macroscopiques importantes; les éléments anatomiques sont déposés au fond du tube; la fibrine coagulée forme de longs voiles dans le liquide; il ne paraît s'être fait aucune culture.

Au microscope, on est extrêmement surpris de constater que les éléments anatomiques sont à peine modifiés dans leur forme. Les globules rouges n'ont guère varié : leur hémoglobine cependant a diffusé en partie et ils ne sont plus éosinophiles. Les cellules nucléées, leucocytes et cellules cancéreuses, ont conservé leur forme et leurs contours. Seules les grosses cellules physaliphores sont affaissées. En général, les noyaux se colorent difficilement; on en trouve quelques-uns parfaitement colorables par le bleu de méthylène. Les nucléoles sont intacts. Le protoplasma est colorable.

Fait remarquable, les granulations intra-cellulaires que nous avons rapportées à une variété de graisse sont augmentées en nombre et en volume. Elles sont irrégulières, et rien ne permet de les considérer comme des parasites.

En résumé :

1° Il existe dans le liquide ascitique du cancer du péritoine des éléments anatomiques signalés depuis longtemps, mais que nos recherches permettent de considérer comme des cellules cancéreuses actives, non dégénérées, capables de proliférer. La constatation clinique de ces cellules a une valeur diagnostique très grande.

2° Les éléments anatomiques de ce liquide conservent pendant très longtemps (dix mois au moins) leur forme extérieure et leur structure, quand on les abandonne à l'abri des germes, en tubes fermés, à l'étuve à 38° ou à la température ordinaire, au contact de l'air.

3° L'examen optique de ce liquide cancéreux, à l'état frais et après une incubation prolongée, ne décèle la présence d'aucun parasite.
